

Биолог. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 616.02:612.017

## ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНЬЕВ ИММУНИТЕТА В РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

К.А. КАЗАРЯН, З.А. ХАЧАТРЯН, М.В. ТАТЬЯН, Л.Г. БУДАГЯН,  
Г.С. АКОПЯН, В.А. МКРТЧЯН, К.Г. КАРАГЕЗЯН, В.М. АРУТЮНЯН

*Институт молекулярной биологии НАН РА, 375014, Ереван*

Исследованы иммунологические параметры у больных, страдающих периодической болезнью. Показано подавление Т-клеточного звена иммунитета, более выраженное в острой стадии заболевания. Выявлено резкое понижение фагоцитарной функции нейтрофилов, что является показателем снижения противоинойфекционной защиты организма. Зарегистрировано также повышение гуморальных показателей иммунитета, независимо от стадии клинического течения болезни. В работе обсуждаются возможные механизмы иммунных нарушений при ПБ.

Դետազոտվել են պարբերական հիվանդությանը (ՊԴ) տառապող հիվանդների մոտ իմունային ցուցանիշները հիվանդության դրսևորման տարբեր փուլերում: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել Թ-բջջային իմունային ցուցանիշների ընկճում, ինչպես նաև նեյտրոֆիլների սպոնտան բակտերիցիդության անկում, որոնք ավելի արտահայտված են հիվանդության սրացման շրջանում: Արձանագրված է նաև իմունիտետի հունորալ ցուցանիշների բարձրացումը անկախ հիվանդության կլինիկական ընթացքից: Աշխատանքում քննարկվում են ՊԴ ժամանակ իմուն շեղումների զարգացման հնարավոր մեխանիզմները:

Immune indices in different stages of FMF have been tested in FMF patients. The quantitative changes of pre-immune factors (the total quantity of complement, C reactive protein, circulating immune complexes) have been detected. The decline of T-cells immune indices, as well as a decrease of spontaneous bactericidal action of neutrophils, which are more expressed in the acute stage of FMF have been revealed. An increase of humoral indices of immunity has also been registered, regardless of the clinical course of the disease.

The possible development mechanisms of immune shifts in FMF are discussed.

### *Периодическая болезнь - Т-клеточный иммунитет - гуморальный иммунитет - фагоцитоз*

Периодическая болезнь (ПБ) является рецессивным генетически обусловленным заболеванием, характеризующимся эпизодами лихорадки, нейтрофил-опосредованными серозными воспалениями или синовитами. Этиопатогенетические механизмы заболевания до настоящего времени не выяснены. Однако недавно идентифицирован ген заболевания, который получил название MEFV. Его обнаружили в зрелых нейтрофилах и предполагают, что он принимает активное участие в регуляции воспалительного процесса. Показана также экспрессия гена в эозинофилах

и моноцитах [2].

Наблюдаемую тенденцию роста заболеваемости ПБ во многих регионах мира, которая заставляет исследователей пересмотреть некоторые аспекты данной проблемы и на основании этого разработать принципиально новые подходы для выяснения причин эпидемиологической ситуации, можно охарактеризовать как начало новой эпидемии.

Поскольку Армения находится в зоне повышенного риска, первостепенной задачей армянских ученых является всестороннее изучение этой проблемы для разработки новых способов лечебно-профилактических мероприятий.

Целью настоящего исследования явилось изучение ряда клеточных и гуморальных показателей иммунитета и неспецифических факторов защиты.

**Материал и методика.** Под наблюдением находились 48 больных ПБ: 32 - в стадии приступа, 16 - в стадии ремиссии. Исследовали также периферическую кровь 18 практически здоровых доноров.

Разделение больных по стадиям заболевания позволило нам выявить особенности иммунного реагирования в зависимости от характера клинического течения болезни.

Больные поступили на стационарное лечение на базе кафедры терапии N 2 ЕрМГУ им. М.Гераци. Диагноз ставили на основании анамнестических, клинических и клинко-лабораторных методов исследования, практикуемых в данном отделении. Шестнадцать больных (в стадии ремиссии) находились на диспансерном учете и обследовались по вызову врача. Возраст больных в пределах 17-43 лет.

Применяли следующие методы иммунологического исследования: Е-РОК и ЕАС-РОК определяли по общепринятой методике; сывороточные иммуноглобулины - методом радиальной иммунодиффузии по Манчини; циркулирующие иммунные комплексы - по методу Дижона [6]; С-реактивный белок (С-РБ) - методом латекс агглютинационного теста; исследование функциональной метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов проводили по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) *in vitro* по методу Сепиашвили [3].

**Результаты и обсуждение.** Изучение клеточных показателей иммунитета (табл. 1) выявило некоторое понижение процента и абсолютного числа лимфоцитов у больных ПБ по сравнению с практически здоровыми лицами на фоне сходных показателей общего количества лейкоцитов. У больных ПБ отмечалось значительное снижение процента Т-розеткообразующих клеток, который был более низким в период приступов ( $35.7 \pm 1,8$ ).

Такая же тенденция наблюдалась и при изучении абсолютного числа Т-лимфоцитов, Т-геофиллин-резистентных ( $T_{\text{геоф-рез}}$ ) и Т-геофиллин-чувствительных клеток ( $T_{\text{геоф-чувст}}$ ). При этом снижение числа этих клеток носило более выраженный характер в период приступов, когда иммунорегуляторный индекс повышался и составлял 2,6. В период ремиссии соотношение  $T_{\text{геоф-рез}}/T_{\text{геоф-чувст}}$  клеток было 2,4 при норме 2,2 (у практически здоровых доноров).

Изучение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов выявило резкое снижение фагоцитарной функции при ПБ, особенно в группе больных, обследованных в стадии приступа (0,05%). В стадии ремиссии заболевания этот показатель составлял 0,09% при 0,74% у практически здоровых лиц.

Обобщая результаты изучения клеточных показателей иммунитета, можно заметить, что в зависимости от стадии клинического течения ПБ

иммунологические параметры изменяются по-разному. Так, например, в период обострения болезни наблюдается снижение общего процента и абсолютного числа лимфоцитов, особенно Т-ряда, снижение уровня иммунорегуляторных  $T_{\text{гсиф-рсз}}$  и  $T_{\text{гсиф-чувст}}$  клеток, повышение иммунорегуляторного индекса, и, что особенно наглядно выявляется, резкое подавление фагоцитарной функции нейтрофилов.

При изучении гуморальных показателей иммунитета (табл. 2) выявлено (независимо от стадии клинического течения ПБ) повышение процента ЕАС-розеткообразующих клеток, IgG, IgM, циркулирующий иммунный комплекс (ЦИК) и С-РБ. Заметные сдвиги в абсолютных числах В-клеток и уровня IgA нами не выявлены.

Следует отметить, что на общем фоне повышения перечисленных показателей гуморального звена иммунитета более выраженные сдвиги выявлены в периоды приступов ПБ.

Таким образом, сопоставляя данные клеточных и гуморальных показателей иммунитета, полученные на разных стадиях течения периодической болезни, можно заключить, что в периоды приступов происходит подавление клеточных и повышение гуморальных показателей иммунитета. В периоды ремиссий выявленная тенденция менее выражена.

Чем это можно объяснить? Какие факторы в период приступов способствуют развитию клеточной иммунологической недостаточности и активации гуморального звена иммунитета? Появляются ли эти факторы внутри иммунной системы или для нее они экзогенны? И, наконец, основной вопрос: иммунологические сдвиги первичны или они являются адекватным ответом протекающего воспалительного процесса?

Для окончательного ответа на эти вопросы требуются дальнейшие исследования с охватом всех аспектов данной проблемы, особенно генетического, иммунологического, вирусологического и микробиологического. Обходя вопросы генетической детерминации ПБ, особенности иммунного реагирования можно объяснить наличием ряда обстоятельств.

Во-первых, не исключено, что у больных ПБ пока что по неизвестным причинам происходит выброс эндотоксинов кишечной и бронхиальной микрофлоры, которые являются не только сильными стимуляторами иммунной реакции, ведущими к поликлональной активации В-лимфоцитов, но и мощными индукторами выработки провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ , хемокинов, а также адгезивных молекул в шоковых тканях (серозные оболочки). Высокий уровень ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  сопровождается стимуляцией синтеза остро-фазовых белков – С-РБ, сывороточного амилоида А и В, фибриногена, I-хемотрипсина, гаптоглобина, факторов свертывания крови [1, 4].

Согласно литературным данным, в патогенез ПБ включены некоторые воспалительные медиаторы [5, 7, 8, 9]. Показан также высокий уровень провоспалительных цитокинов в течение приступов, вне приступов они не определяются или бывают чуть выше, чем у здоровых субъектов.

Впервые проведено исследование цитокинов на транскрипциональном

Таблица 1. Клеточные показатели иммунитета на разных стадиях клинического течения ПБ

Группа обследованных		Количество лейкоцитов	Лимфоциты, %	Абс. число лимфоцитов	Е-РОК, %	Абс. число Т-клеток	T <sub>теоф-рез</sub> клетки	T <sub>теоф-чувст</sub> клетки	T <sub>теоф-рев</sub> / T <sub>теоф-чувст</sub>	Фагоцитоз, %
Периодическая болезнь	В период приступов M ± m n = 32	8,0±0,5	27,1±1,5	2174,0±253,0	35,7±1,8	774,7±38,4	22,9±1,2	8,9±0,4	2,6	0,05
	В период ремиссии M ± m n = 16	7,9±0,6	28,9±1,2	2240,0± 188,5	39,6±2,0	900,3±40,1	24,0±1,4	9,9±0,5	2,4	0,09
	Практически здоровые M ± m n = 18	7,7±0,47	34,1±1,5	2436,0± 167,4	49,0±2,1	1144,6±88,6	30,7±1,8	13,7±0,8	2,2	0,14

Таблица 2. Гуморальные показатели иммунитета на разных стадиях клинического течения ПБ

Группа обследованных		ЕАС-РОК, %	Абс. число В-клеток	Уровень комплемента	IgG	IgA	IgM	ЦИК	СРП
Периодическая болезнь	В период приступов M ± m n = 32	18,0±0,7	389,9±45,0	25,7±1,0	16,7±1,1	1,9±0,1	2,26±0,3	200,0±25,4	3+96
	В период ремиссии M ± m n = 16	17,9±0,6	400,0±70,0	30,1±1,3	15,1±0,7	1,85±0,1	2,1±0,2	182,0±9,0	2+48
	Практически здоровые M ± m n = 18	15,8±0,8	420,6±60,2	33,3±1,4	13,3±0,9	1,8±0,1	1,1±0,01	130,0±0	—

уровне у генетически диагностированных пациентов [10]. В работе проведено сравнительное исследование 4-х провоспалительных цитокинов – ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8. Показано, что ФНО- $\alpha$  играет ключевую роль в воспалительном процессе, стимулируя выработку ИЛ-1, которое имеет пиретическое влияние. ИЛ-6 способствует выделению реактантов острой фазы, ИЛ-8 является хемоаттрактантом [10].

Эти компоненты воспаления, помимо защитного действия, регулируют реакции иммунитета, подавляя клеточные и стимулируя гуморальные ответы.

С другой стороны, некоторые из указанных цитокинов в состоянии повышать экспрессию адгезивных молекул, антигенов HLA-системы, сосудистую проницаемость, апоптоз и прокоагулянтную активность.

Не исключено, что персистенция некоторых продуктов бактериального или вирусного происхождения (кишечной и бронхиальной микрофлоры) по типу минорных антигенов сенсибилизирует организм, что является причиной периодической манифестации аллергических реакций немедленного типа.

Тогда чем объяснить периодичность возникновения приступов и начало срыва ремиссии? Клиническую манифестацию симптомокомплекса можно интерпретировать с точки зрения развития аллергического воспаления серозных оболочек (II и III типов). Формирование гиперчувствительности, очевидно, носит вторичный характер. Главное, по-видимому, время для накопления критической концентрации патогенных начал (возможно, эндотоксинов), которые накапливаются с различной периодичностью. Осуществление мониторинга этих субстанций в настоящее время не представляется возможным, поскольку они до сих пор не идентифицированы. Тем не менее предугадать наступление приступа возможно на основании симптомов-предвестников и иммунологического мониторинга. Последний экономически не целесообразен из-за больших финансовых затрат (аппаратура, реактивы) и поэтому не нашел широкого распространения.

Резкое подавление фагоцитарной функции нейтрофилов наводит нас на мысль, что подавление клеточных показателей иммунитета происходит за счет непрезентированных антигенов, возможно, вирусного происхождения или токсических молекул наподобие прионов.

В этом случае может происходить поликлональная активация В-клеток с повышением Ig и ЦИК. Повышение уровня IgM свидетельствует о том, что первичный иммунный ответ развивается, однако трудно сказать против каких антигенов.

Но развитие каскада процессов, связанных с процессингом и презентацией возможного антигена может быть детерминировано либо генетически (в отношении определенных чужеродных молекул), либо в результате антигенной мимикрии, либо отсутствие антигенности закодировано в самой чужеродной болезнетворной субстанции.

Это возможно, если болезнетворные молекулы имеют чрезвычайно малые размеры или скрывают инфекционные начала путем их агрегации.

Малые размеры инфекционных молекул и маскировка болезнетворных участков, а также низкая концентрация молекул при одновременной

сохранности патогенных свойств позволяют им беспрепятственно обходить иммунологический барьер организма и вызывать те или иные патологические процессы. Иммунный ответ при этом развивается, возможно, на новые антигены, образующиеся в результате деструкции ткани.

Таким образом, все патологические процессы при ПБ, прямо или косвенно вовлекающиеся в работу иммунной системы, изменяют баланс компонентов последней, что приводит (с той или иной частотой) к ее перенапряжению, далее к срыву согласованности функционирования иммунной системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. М., 2003.
2. Сениашвили Р.И. Введение в иммунологию. Цхалтубо-Кутаиси, 198-200, 1987.
3. Centola M, Wood G, Frucht DM, Galon J, Aringer M, Farrell C, Kingma DW, Horwitz ME, Mansfield E, Holland SM, O'Shea JJ, Rosenberg HF, Malech HL, Kastner DL. Blood, 95, 3223-3231, 2000.
4. Castell JV, Andus T, Kunz D, Heinrich PC. Interleukin, 6. Ann NY Acad. Sci., 557, 87-99, 1989.
5. Digeon M, Lavel M, Riza J et al. J Immunology Meth., 16, p. 165, 1977.
6. Direskeneli H, Azdogan H, Korkmaz C, Akoglu T, Yazici H. J Rheumatol, 26, 1983-1986, 1999.
7. Gang N, Drenth J, Langevitz P et al. J Rheumatol, 26, 890-897, 1999.
8. Kiraz S, Erteli I, Arici M et al. Clin Exp Rheumatol, 16, 721-724, 1998.
9. Mege JL, Dilsen N, Sanguedolce V et al. J Rheumatol, 20, 1544-1549, 1993.
10. Notarnicola C, Didelot MN, Seguret F, Demaille J and Touitou I. J Genes and Immunology, 3, 43-45, 2002.

Поступила 22.X.2003